

УДК 543.42.062:547:665.112.1.

## ЭКСТРАКЦИОННО-ФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ 2-МЕТИЛ-1,4-НАФТОХИНОНА (ВИТАМИН $K_3$ ) И 2-МЕТИЛНАФТАЛИНА В РЕАКЦИОННОЙ СМЕСИ

Д.В.Еремин, Л.А.Петров

Институт органического синтеза Уральского отделения РАН им.И.Я.Постовского  
620219, Екатеринбург, ГСП-147, С.Ковалевской, 22 / Академическая, 20

Поступила в редакцию 22 июля 2005 г.

Предложен простой экстракционно - фотометрический метод определения витамина  $K_3$  (2-метил-1,4-нафтохинон) и 2-метилнафталины. Метод основан на разбавлении уксуснокислых растворов водой с последующей экстракцией хлороформом. Установлено, что оптическую плотность хлороформенного раствора 2-метилнафтохинона лучше снимать при 336 нм, а 2-метилнафталины при 321 нм. Градуировочный график для 2-метилнафтохинона линеен при  $1 \cdot 10^{-4} - 1,2 \cdot 10^{-3}$  М для 2-метилнафталины при  $3 \cdot 10^{-4} - 4 \cdot 10^{-3}$  М.

**Еремин Дмитрий Владимирович** - аспирант  
института органического синтеза им.  
И.Я.Постовского Уральского отделения РАН.  
Область научных интересов: гетерогенный  
катализ, гели, сорбенты.  
Автор 1 статьи.

**Петров Лев Алексеевич** - руководитель  
группы каталитических процессов, Институт  
органического синтеза им. И.Я.Постовского  
Уральского отделения РАН, доктор  
химических наук.  
Область научных интересов: органический  
синтез, гетерогенный катализ, гели,  
сорбенты.  
Автор 190 публикаций.

Витамин  $K_3$  (2-метил-1,4-нафтохинон или менадион) относится к жирорастворимым витаминам группы К. Витамин играет важную роль при свертывании крови. Его водорастворимая форма - викасол (2-метил-1,4-диоксо-1,2,3,4-тетрагидро-2-нафталинсульфонат натрия) находит широкое применение в животноводстве (90 %) и медицине (10%) [1]. Кроме того, витамин проявляет относительно высокую активность против различных опухолевых клеток [2].

Описанные в литературе методы количественного определения витамина относятся преимущественно к таким объектам как плазма крови или фармацевтические препараты. Однако все эти методы достаточно трудоемки, требуют дорогого приборного оформления и рассчитаны на очень малые количества вещества. Характеристики некоторых методов представлены в табл. 1.

С другой стороны, благодаря тому, что производство витамина  $K_3$  осуществляется в промышленных масштабах окислением 2-метилнафталины до 2-метил-1,4-нафтохинона оксидом хрома (VI) и ведутся исследования по разработке новых технологий его получения [10, 11, 12, 13, 14], то до сих пор существует необходимость в несложной и недорогой методике количественного оп-

ределения 2-метилнафталина и витамина  $K_3$  в реакционной смеси. А именно в уксусной кисло-

те как наиболее распространенного растворителя при синтезе 2-метилнафтохинона.

Таблица 1

Сравнительные характеристики разных методик определения 2-метилнафтохинона

| Метод анализа  | Объект исследования        | Диапазон линейности градуировочного графика | Литература |
|--|----------------------------|---|------------|
| Высокоэффективная жидкостная хроматография                                     | Плазма крови               | 0.01-10.00 мг/л                             | [2]        |
| Высокоэффективная жидкостная хроматография                                     | Плазма крови               | Предел обнаружения 0.4 нг                   | [3]        |
| Высокоэффективная жидкостная хроматография с предварительным концентрированием | Плазма крови               | 0.1-100 мкг/л                               | [4]        |
| Фотохимическая реакция   | Фармацевтические препараты | $10^{-7}$ - $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л        | [5]        |
| Спектрофотометрический с $\beta$ -циклодекстрином                              | Фармацевтические препараты | 0.1-2.0 мг/л                                | [6]        |
| Спектрофотометрический с восстановлением в твердофазном цинковом реакторе      | Фармацевтические препараты | 0.1-18 мг/л                                 | [7]        |
| Спектрофотометрический с восстановлением на $SnCl_2$                           | Фармацевтические препараты | 2.00-180 мкг/л                              | [8]        |
| Потенциометрический  | Плазма крови               | $10^{-5}$ – $10^{-1}$ моль/л                | [9]        |

В данной работе описан метод спектрофотометрического определения витамина  $K_3$  и 2-метилнафталина из растворов уксусной кислоты с предварительной экстракцией хлороформом

#### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Аппаратура, растворы и реагенты.** Растворы 2-метилнафталина и 2-метил-1,4-нафтохинона готовили из фармакопейных препаратов. Уксусная кислота и хлороформ имели квалификацию х. ч. Спектры поглощения снимали на спектрофотометре «Shimadzu UV-2401-PC» оборудованном кварцевыми кюветами с толщиной слоя 1 см. Исходный хлороформенный 0.0055 М раствор 2-метилнафталина и 0.0024 М раствор 2-метилнафтохинона, для построения калибровочных графиков, получали растворением соответствующего количества вещества в хлороформе. Рабочие растворы готовили разбавлением этих растворов.

Исходный уксуснокислый 0.3 М раствор 2-метилнафталина и 0.15 М раствор 2-метилнафтохинона получали растворением соответствующего количества веществ в ледяной уксусной кислоте. Рабочие растворы готовили разбавлением этих растворов.

**Методика работы.** Для построения калибровочного графика брали разные аликвоты исход-

ного хлороформенного раствора 2-метилнафталина или 2-метилнафтохинона, помещали в мерные колбы на 25 мл и доводили до метки хлороформом. Затем измеряли оптическую плотность.

Исследуемый уксуснокислый раствор помещали в делительную воронку, добавляли избыток воды и экстрагировали хлороформом три раза по 15 мл в течении 3 минут. Объем экстракта доводили до 50 мл. Светопоглощение экстракта измеряли относительно хлороформа.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Сравнение спектров.** Для разработки методики определения концентраций 2-метилнафталина и 2-метилнафтохинона в уксусной кислоте, на спектрофотометре были сняты молекулярные спектры хлороформенных растворов этих соединений. Они представлены на рис. 1 и 2. Как следует из спектров, для витамина  $K_3$  характерен максимум поглощения при длине волны 336 нм. Этот максимум поглощения удобен тем, что имеет рабочий диапазон поглощения (от 0 до 4 А) при относительно удобных концентрациях, т.е. от  $10^{-4}$  до  $1.5 \cdot 10^{-3}$  М. Область поглощения лежащая левее 300 нм не удобна тем, что имеет слишком большой молярный коэффициент поглощения и перекрывается со спектром 2-метилнафталина.

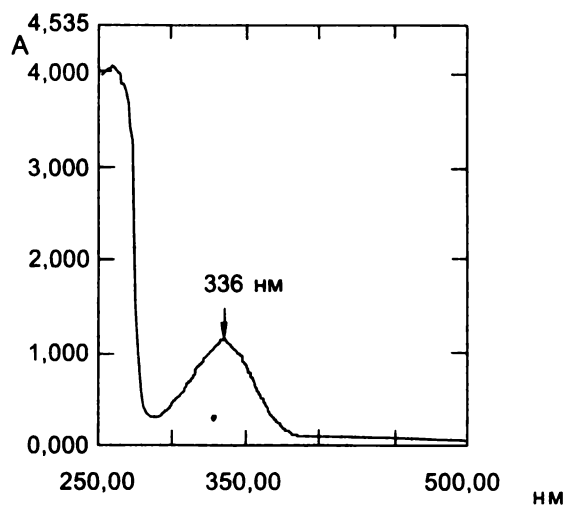


Рис.1. Спектр хлороформенного раствора 2-метилнафтохинона.  $C(K_3)=4.5 \cdot 10^{-4}$  М

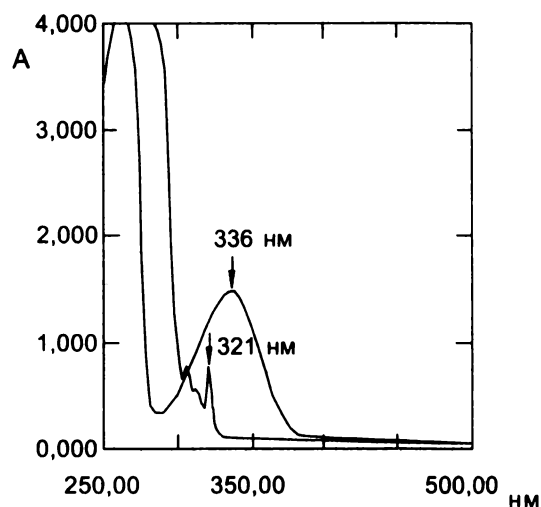


Рис.3. Наложенные спектры хлороформенных растворов 2-метилнафталина и 2-метилнафтохинона

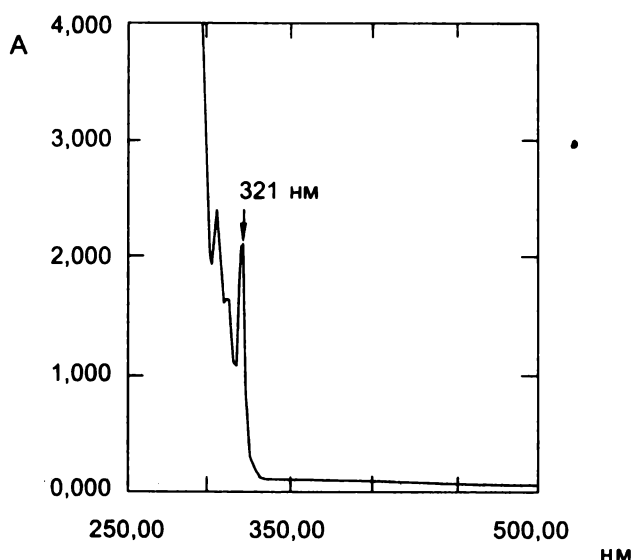


Рис.2. Спектр хлороформенного раствора 2-метилнафталина.  $C=5 \cdot 10^{-3}$  М

Спектр 2-метилнафталина имеет несколько другой вид (за исключением области левее 300 нм), обусловленный наличием пика поглощения при 321 нм, хотя и несколько вытянутой формы, но вполне пригодного для количественного определения нафталина. Пик имеет оптическую плотность от 0 до 2 А при концентрации вещества от  $3 \cdot 10^{-4}$  до  $4 \cdot 10^{-3}$  М.

При сравнении спектров видно, что максимум поглощения при 336 нм не перекрывается пиком, относящимся к 2-метилнафталину при 321 нм. Следовательно, количественному определению витамина  $K_3$  не будет мешать 2-метилнафталин. В свою очередь, картина для 2-метилнафталина совершенно противоположная. Максимум поглощения при 321 нм полностью перекрывается пиком при 336 нм, что затрудняет количественное определение 2-метилнафталина, если в исследуемом экстракте присутствует витамин  $K_3$  рис.3.

Однако, если вначале определить концентрацию 2-метилнафтохинона по пику при 336 нм, а затем, зная оптическую плотность 2-метилнафтохинона при 321 нм вычесть ее из суммарной оптической плотности смеси 2-метилнафталина и витамина  $K_3$  при длине волны 321 нм, то можно количественно определить содержание 2-метилнафталина. Спектр хлороформенного раствора содержащего одновременно 2-метилнафталин и 2-метил-1,4-нафтохинон представлен на рис.4.

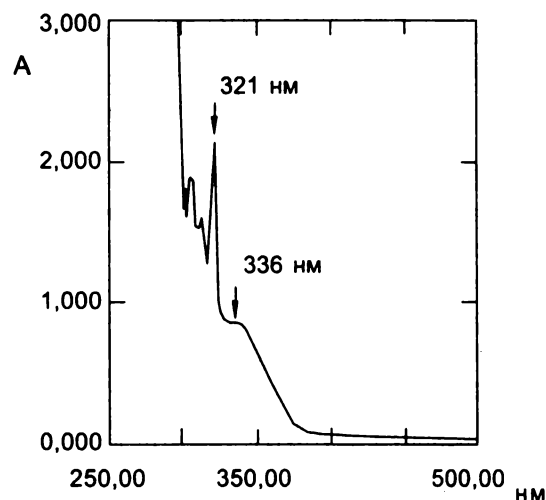


Рис.4. Спектр хлороформенного раствора 2-метилнафталина и 2-метилнафтохинона

**Калибровочные графики.** Изучение зависимости поглощения оптической плотности хлороформенного раствора от концентрации хинона и метилнафталина, показало, что для 2-метилнафталина при длине волны 321 нм линейность калибровочного графика сохраняется в интервале концентраций  $3 \cdot 10^{-4}$  –  $4 \cdot 10^{-3}$  М. Уравнение графика:  $y=0.022+447 \cdot x$ , где  $x$  – концентрация определяемого вещества в моль/л,  $y$  – оптическая плотность. Квадрат коэффициента корреляции равен

0.995. Для 2-метилнафтохинона при длине волны 336 нм линейность графика сохраняется в интервале  $1 \cdot 10^{-4} - 1.2 \cdot 10^{-3}$  М. Уравнение графика:  $y = 0.0307 + 2847 \cdot x$ . При 321 нм уравнение графика:  $y = 0.1533 + 2219 \cdot x$ . Квадрат коэффициента корреляции равен 0.993 и 0.996 соответственно. На основании уравнений калибровочных графиков можно вывести формулы, по которым можно определить концентрации 2-метилнафталина и  $K_3$  при их совместном присутствии:

$$\begin{aligned} C(K_3) &= (A(336) - 0.03) / 2848 \\ C(MH) &= A(321) / 447 - A(336) / 574 \end{aligned}$$

**Кратность разбавления водой.** Было изучено влияние степени разбавления уксуснокислого раствора нафталина и хинона водой на процесс экстракцией хлороформом. Для этого брались аликвоты определяемых растворов, разбавлялись разными количествами воды и экстрагировались хлороформом. Результаты представлены в табл.2.

Таблица 2

Влияние соотношения объемов  $H_2O$  и  $CH_3COOH$  на экстракцию 2-метилнафталина и витамина  $K_3$  из уксусной кислоты

|          | $V(CH_3COOH) : V(H_2O)$ | $C(MH)$ М | $C(K_3)$ М |
|----------|-------------------------|-----------|------------|
| введено  | —                       | 0,0090    | 0,0045     |
| найденно | 1:1                     | 0,0086    | 0,0041     |
|          | 1:2                     | 0,0085    | 0,0043     |
|          | 1:3                     | 0,0089    | 0,0045     |

Как следует из полученных данных, наилучшая экстракция наблюдается при трехкратном разбавлении уксусной кислоты водой. Поэтому в дальнейшем использовалось именно это соотношение.

**Совместное определение метилнафталина и витамина  $K_3$ .** При анализе молекулярных спектров 2-метилнафталина и  $K_3$  видно, что максимум поглощения при 336 нм характерный для  $K_3$  полностью перекрывает максимум поглощения при 321 нм для 2-метилнафталина. Это может привести к тому, что при какой-то концентрации  $K_3$  ошибка определения количества нафталина станет недопустимо большой, и как следствие,

сделает невозможным его количественное определение. Это вполне объясняется при рассмотрении спектра хлороформенного раствора, представленного на рис. 4.

Для оценки границ применимости методики, было исследовано влияние соотношения концентраций МН и  $K_3$  на точность определения каждого компонента. Результаты представлены в табл.3.

Таблица 3

Результаты определения 2-метилнафталина и 2-метилнафтохинона по предложенной методике при разном соотношении их концентраций из раствора уксусной кислоты

| № | $C(\text{метилнафталин}),$<br>моль/л | $C(K_3),$<br>моль/л  | $C(\text{метилнафталин})/$<br>$C(K_3)$ |
|---|--------------------------------------|----------------------|--|
| 1 | 0,0028*<br>(0,0026)**                | 0,00009<br>(0,00008) | 31<br>(31)                             |
| 2 | 0,0028<br>(0,0027)                   | 0,00027<br>(0,00026) | 10<br>(10)                             |
| 3 | 0,0028<br>(0,0027)                   | 0,00054<br>(0,00052) | 5,2<br>(5,2)                           |
| 4 | 0,0022<br>(0,0020)                   | 0,00090<br>(0,00088) | 2,5<br>(2,3)                           |
| 5 | 0,0011<br>(0,0014)                   | 0,00090<br>(0,00087) | 1,2<br>(1,6)                           |

\* - без скобок введено

\*\* - в скобках найдено

Из полученных данных следует, что ошибка определения концентрации 2-метилнафталина начинает быстро расти при  $C(MH) \leq C(K_3)$ . Следовательно, как только концентрация витамина  $K_3$  превысит концентрацию 2-метилнафталина или сравняется с ней, точно определить количество последнего станет невозможно, но с другой стороны концентрацию  $K_3$  можно определить при любом количестве 2-метилнафталина.

Представленный метод определения количеств 2-метилнафтохинона и 2-метилнафталина удобен при разработке новых технологий окисления 2-метилнафталина до витамина  $K_3$ , а так же может быть рекомендован как экспресс анализ при промышленном производстве менадиона.

## ЛИТЕРАТУРА

- Matveev K.I. New route to vicasol, a water-soluble form of vitamin  $K_3$  / K.I. Matveev, V.F. Odyakov, E.G. Zhizhina / Russian Journal of Applied Chemistry. 2001. V.74. P.469-472.
- Oliver Y.-P. Hu Determination of anticancer drug vitamin  $K_3$  in plasma by high-performance liquid chromatography / Oliver Y.-P. Hu, Chih-Yuan Wu, Win-Kai Chan,

- Felicia Y.-H. Wu // Journal of Chromatography. 1995. V.666. P.299-305.
- Edwina Sau Man Po Simultaneous chromatographic analysis of eight fat-soluble vitamins in plasma / Edwina Sau Man Po, John W. Ho, Bu Yi Gong // J.Biochem. Biophys. Methods. 1997. V.34. P.99-106.
- Ortiz Boyer F. Determination of vitamin  $D_2$ ,  $D_3$ ,  $K_1$  and

- K<sub>3</sub> and some hydroxy metabolites of vitamin D<sub>3</sub> in plasma using a continuous clean-up-preconcentration procedure coupled on-line with liquid chromatography-UV detection /F.Ortiz Boyer, J.M.Fernandez Romero, M.D.Luque de Castro, J.M.Quesada// *Analyst*. 1999. V. 124. P. 401-406.
5. Tomas Perez-Ruiz Flow injection determination of vitamin K<sub>3</sub> by a photoinduced chemiluminescent reaction /Tomas Perez-Ruiz, Carmen Martinez-Lozano, Virginia Tomas // *Analyst*. 1999. V. 124. P. 197-201.
6. Berzas Nevado J.J. Spectrofluorimetric study of the  $\beta$ -cyclodextrin: vitamin K<sub>3</sub> complex and determination of vitamin K<sub>3</sub> /J.J. Berzas Nevado, J.A. Murillo Pulgarin, M.A. Gomez Laguna // *Talanta*. 2000. V.53. P.951-959.
7. Gil Torro I. Spectrofluorimetric determination of vitamin K<sub>3</sub> by a solid-phase zinc reactor immobilized in a flow injection assembly / I.Gil Torro, J.V.Garcia Mateo, J.Martinez Calatayud // *Analyst*. 1997. V. 122. P. 139-142.
8. Berzas Nevado J.J. Spectrofluorimetric determination of vitamin K<sub>3</sub> /J.J. Berzas Nevado, J.A. Murillo Pulgarin, M.A. Gomez Laguna // *Analyst*. 1998. V. 123. P.287-290.
9. Nashwa M.H.Rizk. Potentiometric determination of menadion (vitamin K<sub>3</sub>) /*Microchim. Acta*. 2002. V. 138. P.53-58.
10. Sancarabubber Narayanan A novel and environmentally benign selective route for vitamin K<sub>3</sub> synthesis /Sancarabubber Narayanan, K.V.V.S.B.S.R. Murthy, K.Madhusudan Reddy, N. Premchander.// *Applied Catalysis A: General*. 2002. V.228. P.161-165.
11. Sorokin A.B. Selective oxidation of aromatic compounds with dioxygen and peroxides catalyzed by phthalocyanine supported catalysts /A.B Sorokin, S. Mangematin, C. Pergrale // *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*. 2002. V. 182-183. P. 267-281.
12. Shigekazu Yamazaki Chromium(VI) oxide-catalyzed oxidation of arenes with periodic acid // *Tetrahedron Letters*. 2001. V.42. P.3355-3357.
13. Herrmann W.A. Rhenium-catalyzed oxidation of arenes – an improved synthesis of vitamin K<sub>3</sub> /W.A.Herrmann, J.J.Haider, R.W.Fischer // *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*. 1999. V. 138. P.115-121.
14. Michman M. Homogeneous vs. heterogeneous processes in electrocatalysis. Different types of catalysis in organic electrooxidation // *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*. 1996. V. 107. P.393-398.

\* \* \* \* \*

*Photometric determination of 2-methyl-1,4-naphthoquinone (vitamin K<sub>3</sub>) and 2-methylnaphthalene in reaction mixture.*

*D.V.Erjomin, L.A.Petrov*

*The quality control substances, containing of 2-methyl-1,4-naphthoquinone and 2-methylnaphthalene is very important in the manufacture of vitamin K<sub>3</sub>. Method of separate determination of 2-methyl-1,4-naphthoquinone and 2-methylnaphthalene was suggested.*